

INTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE  
INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)(51) Internationale Patentklassifikation <sup>7</sup> :C12P 17/00, 19/60, C07H 17/07, A61K  
31/70, A23L 1/03, A61K 31/35

A2

(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 00/26399

(43) Internationales  
Veröffentlichungsdatum:

11. Mai 2000 (11.05.00)

(21) Internationales Aktenzeichen:

PCT/EP99/07685

(22) Internationales Anmeldedatum: 13. Oktober 1999 (13.10.99)

(30) Prioritätsdaten:

198 50 282.6 30. Oktober 1998 (30.10.98) DE  
198 50 570.1 2. November 1998 (02.11.98) DE(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US): MERCK  
PATENT GMBH [DE/DE]; Frankfurter Strasse 250,  
D-64293 Darmstadt (DE).

(72) Erfinder; und

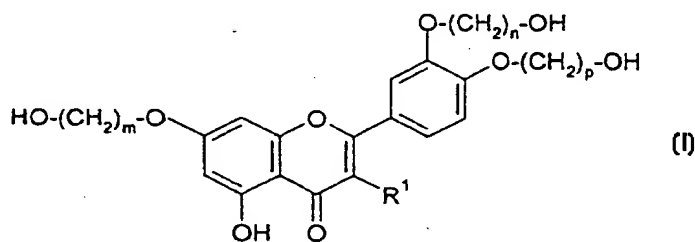
(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): BUCHHOLZ, Herwig  
[DE/DE]; Auf dem Mühlberg 75, D-60599 Frankfurt (DE).  
ROSSKOPF, Ralf [DE/DE]; Friedhofstrasse 26, D-64839  
Münster (DE).(74) Gemeinsamer Vertreter: MERCK PATENT GMBH; Frank-  
furter Strasse 250, D-64293 Darmstadt (DE).(81) Bestimmungsstaaten: AE, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB,  
BG, BR, BY, CA, CH, CN, CU, CZ, DE, DK, EE, ES, FI,  
GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE,  
KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MD, MG,  
MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE,  
SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, UA, UG, US, UZ, VN,  
YU, ZA, ZW, ARIPO Patent (GH, GM, KE, LS, MW, SD,  
SL, SZ, TZ, UG, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY,  
KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE,  
CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC,  
NL, PT, SE), OAPI Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA,  
GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Veröffentlicht

Ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu  
veröffentlichen nach Erhalt des Berichts.

(54) Title: METHOD FOR THE PRODUCTION OF QUERCETIN AND ISOQUERCETIN DERIVATIVES

(54) Bezeichnung: VERFAHREN ZUR HERSTELLUNG VON QUERCETIN- UND ISOQUERCETIN-DERIVATEN



(57) Abstract

Disclosed is a method for the production of compounds of formula (I), whereby m, n, p and R<sup>1</sup> have the meanings given in Claim 1. Said compounds can be used in an advantageous manner as food supplements. They are particularly suitable for use in cosmetic formulations as UV filters for example.

(57) Zusammenfassung

Es wird ein Verfahren zur Herstellung von Verbindungen der Formel (I) beschrieben, worin m, n, p, und R<sup>1</sup> die in Anspruch 1 angegebene Bedeutung besitzen. Diese Verbindungen sind in vorteilhafter Weise zur Verwendung als Nahrungsergänzungsmittel geeignet. Sie eignen sich zudem in hervorragender Weise zur Verwendung in kosmetischen Formulierungen, z.B. als UV-Filter.

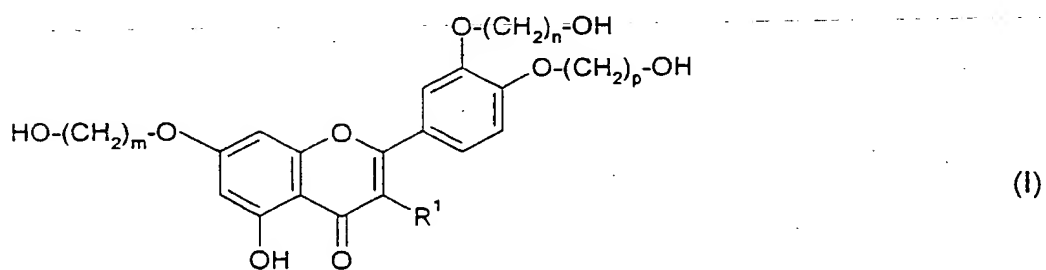
### LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

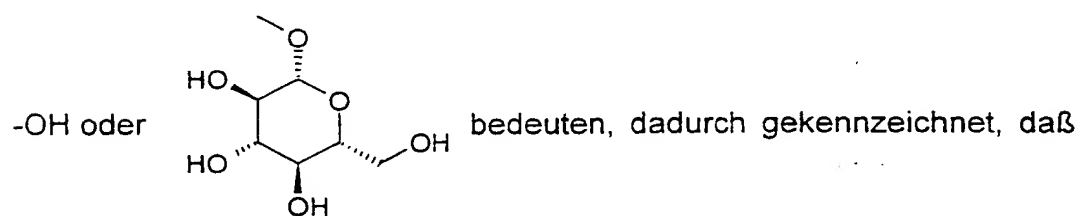
AL	Albanien	ES	Spanien	LS	Lesotho	SI	Slowenien
AM	Armenien	FI	Finnland	LT	Litauen	SK	Slowakei
AT	Österreich	FR	Frankreich	LU	Luxemburg	SN	Senegal
AU	Australien	GA	Gabun	LV	Lettland	SZ	Swasiland
AZ	Aserbaidshon	GB	Vereinigtes Königreich	MC	Monaco	TD	Tschad
BA	Bosnien-Herzegowina	GE	Georgien	MD	Republik Moldau	TG	Togo
BB	Barbados	GH	Ghana	MG	Madagaskar	TJ	Tadschikistan
BE	Belgien	GN	Guinea	MK	Die ehemalige jugoslawische Republik Mazedonien	TM	Turkmenistan
BF	Burkina Faso	GR	Griechenland			TR	Türkei
BG	Bulgarien	HU	Ungarn	ML	Mali	TT	Trinidad und Tobago
BJ	Benin	IE	Irland	MN	Mongolei	UA	Ukraine
BR	Brasilien	IL	Israel	MR	Mauretanien	UG	Uganda
BY	Belarus	IS	Island	MW	Malawi	US	Vereinigte Staaten von Amerika
CA	Kanada	IT	Italien	MX	Mexiko		
CF	Zentralafrikanische Republik	JP	Japan	NE	Niger	UZ	Usbekistan
CG	Kongo	KE	Kenia	NL	Niederlande	VN	Vietnam
CH	Schweiz	KG	Kirgisistan	NO	Norwegen	YU	Jugoslawien
CI	Côte d'Ivoire	KP	Demokratische Volksrepublik Korea	NZ	Neuseeland	ZW	Zimbabwe
CM	Kamerun			PL	Polen		
CN	China	KR	Republik Korea	PT	Portugal		
CU	Kuba	KZ	Kasachstan	RO	Rumänien		
CZ	Tschechische Republik	LC	St. Lucia	RU	Russische Föderation		
DE	Deutschland	LI	Liechtenstein	SD	Sudan		
DK	Dänemark	LK	Sri Lanka	SE	Schweden		
EE	Estland	LR	Liberia	SG	Singapur		

## Verfahren zur Herstellung von Quercetin- und Isoquercetin-Derivat n

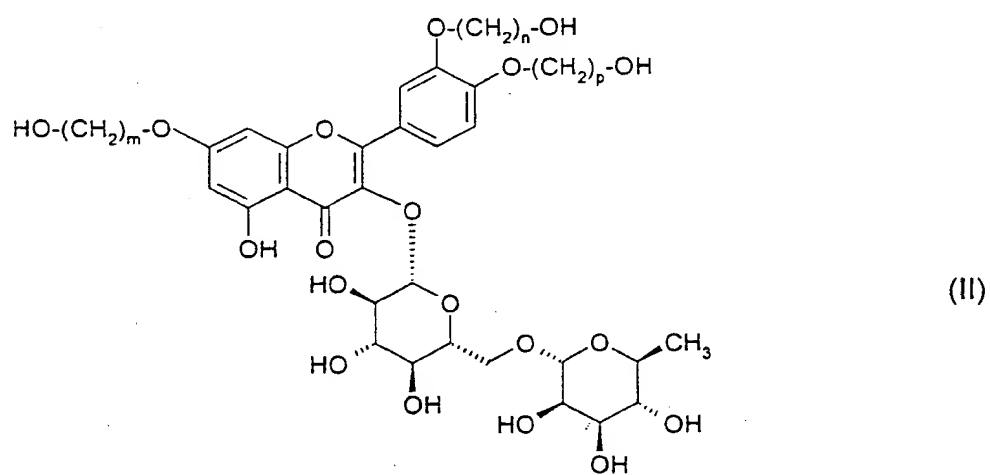
Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung von Verbindungen der Formel I



15 worin m, n und p jeweils unabhängig voneinander 2 bis 8 und der Rest R¹



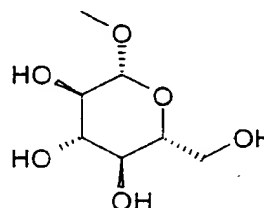
Verbindungen der Formel II



worin m, n und p die in Formel I angegebene Bedeutung besitzen, in wäßrigem Milieu enzymatisch gespalten werden.

Im Rahmen der vorliegenden Erfindung werden die Verbindungen der Formel I, in denen der Rest R<sup>1</sup> OH bedeutet, als Quercetin-Derivate bezeichnet. Im Rahmen der vorliegenden Erfindung werden die Verbindungen

der Formel I, in denen der Rest R<sup>1</sup>



bedeutet, als Isoquercetin-Derivate bezeichnet. Die Verbindungen der Formel II werden im Rahmen der vorliegenden Erfindung als Rutin-Derivate bezeichnet.

Die Verbindungen der Formel I weisen eine oder mehrere vorteilhafte Eigenschaften auf, z.B. antioxidative, kardiovaskuläre, antivirale, den Prostaglandin-Metabolismus beeinflussende und/oder spasmolytische Eigenschaften. In Mischungen mit anderen Flavonoiden besitzen sie auch synergistische, beispielsweise purgative, Eigenschaften.

Die Quercetin- und Isoquercetin-Derivate der Formel I besitzen eine bessere Wasserlöslichkeit als Quercetin und Isoquercetin selbst. Zudem sind sie weniger farbig und somit für Anwendungen in der Kosmetik besser geeignet. Sie eignen sich zudem in vorteilhafter Weise für eine Anwendung auf dem Nahrungsmittelsektor.

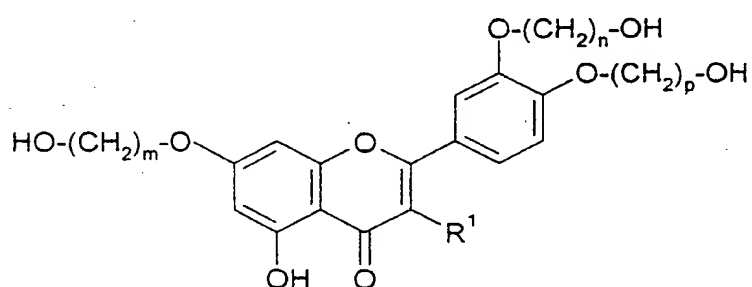
Bekannte Verfahren zur Herstellung der Verbindungen der Formel I haben den Nachteil, daß sie z.B. toxische Verbindungen und/oder organische Lösungsmittel verwenden.

Somit bestand die Aufgabe, ein Verfahren zur Herstellung von Quercetin- und Isoquercetin-Derivaten zu entwickeln, welches die Nachteile bekannter Verfahren vermeidet oder zumindest vermindert und insbesondere eine einfache Durchführung ermöglicht.

5

Überraschend wurde nun gefunden, daß diese Aufgabe gelöst wird, wenn das Verfahren zur Herstellung der Verbindungen der Formel I

10

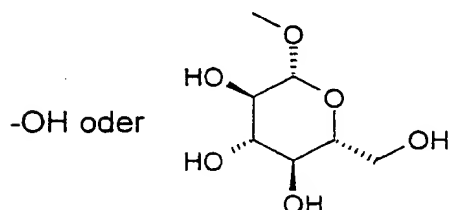


(I)

15

worin m, n und p jeweils unabhängig voneinander 2 bis 8 und der Rest R<sup>1</sup>

20



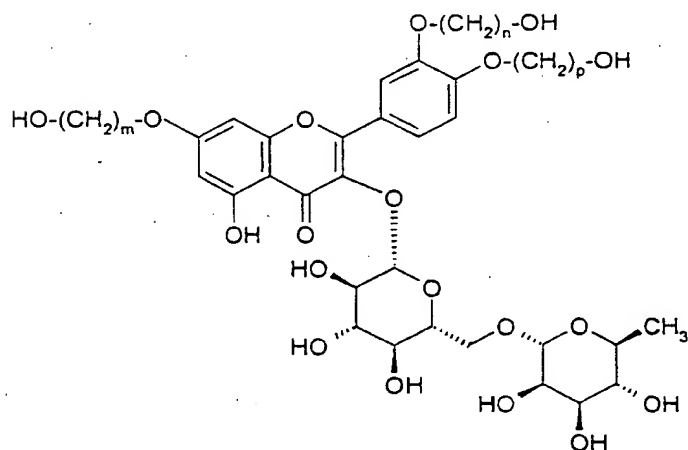
-OH oder

bedeuten, so durchgeführt wird, daß Ver-

25

bindungen der Formel II

30



(II)

35

worin m, n und p die in Formel I angegebene Bedeutung besitzen, in wäßrigem Milieu enzymatisch gespalten werden.

5 Das erfindungsgemäße Verfahren zeichnet sich insbesondere dadurch aus, daß die Herstellung der Verbindungen der Formel I aus ungiftigen Substanzen in einfacher Weise erfolgt. Die Aufarbeitung wird z.B. dadurch vereinfacht, daß die Löslichkeit der Produkte unter den Bedingungen des  
10 erfindungsgemäßen Verfahrens überraschenderweise geringer als die der Edukte ist. Zudem hat das erfindungsgemäße Verfahren den Vorteil, daß alle gleich substituierten Verbindungen der Formel I für beide Bedeutungen von R<sup>1</sup> aus einer einzigen Ausgangsverbindung hergestellt  
15 werden können.

Die vorliegende Erfindung betrifft weiterhin Nahrungsmittel, die mit einer oder mehreren Verbindungen der Formel I angereichert worden sind, sowie die Verwendung der Verbindungen der Formel I als Nahrungs-  
20 ergänzungsmittel.

Die Nahrungsmittel, die nach der vorliegenden Erfindung mit einer oder mehreren Verbindungen der Formel I angereichert werden können, umfassen alle Materialien, die für den Verzehr durch Tiere oder für den  
25 Verzehr durch Menschen geeignet sind, beispielsweise Vitamine und Provitamine davon, Fette, Mineralien oder Aminosäuren. Nahrungsmittel, die nach der vorliegenden Erfindung mit einer oder mehreren Verbindungen der Formel I angereichert werden können, sind  
30 beispielsweise auch Nahrungsmittel, die aus einer einzigen natürlichen Quelle stammen, wie z.B. Zucker, ungesüßter Saft, Nektar oder Püree von einer einzigen Pflanzenspezies, wie z.B. ungesüßter Apfelsaft (z.B. auch eine Mischung verschiedener Sorten Apfelsaft), Grapefruitsaft,  
35 Orangensaft, Apfelkompott, Aprikosennektar, Tomatensaft, Tomatensauce, Tomatenpüree, usw.. Weitere Beispiele für Nahrungsmittel, die

nach der vorliegenden Erfindung mit einer oder mehreren Verbindungen der Formel I angereichert werden können, sind Korn oder Getreide einer einzigen Pflanzenspezies und Materialien, die aus derartigen Pflanzenspezies hergestellt werden, wie z.B. Getreidesirup, Roggenmehl, Weizenmehl oder Haferkleie. Auch Mischungen von derartigen Nahrungsmitteln sind geeignet, um nach der vorliegenden Erfindung mit einer oder mehreren Verbindungen der Formel I angereichert zu werden, beispielsweise Multivitaminpräparate, Mineralstoffmischungen oder gezuckerter Saft. Als weitere Beispiele für Nahrungsmittel, die nach der vorliegenden Erfindung mit einer oder mehreren Verbindungen der Formel I angereichert werden können, seien Nahrungsmittelzubereitungen, beispielsweise zubereitete Zerealien, Gebäck, Mischgetränke, speziell für Kinder zubereitete Nahrungsmittel wie Joghurt, Diätnahrungsmittel, kalorienarme Nahrungsmittel oder Tierfutter genannt.

Die Nahrungsmittel, die nach der vorliegenden Erfindung mit einer oder mehreren Verbindungen der Formel I angereichert werden können, umfassen somit alle genießbaren Kombinationen von Kohlehydraten, Lipiden, Proteinen, anorganischen Elementen, Spurenelementen, Vitaminen, Wasser und aktiven Metaboliten von Pflanzen und Tieren.

Die Nahrungsmittel, die nach der vorliegenden Erfindung mit einer oder mehreren Verbindungen der Formel I angereichert werden können sowie die Nahrungsergänzungsmittel, die eine oder mehrere Verbindungen der Formel I enthalten, werden vorzugsweise oral angewendet, z.B. in Form von Essen, Pillen, Tabletten, Kapseln, Pulver, Syrups, Lösungen oder Suspensionen.

Die mit einer oder mehreren Verbindungen der Formel I angereicherten erfindungsgemäßen Nahrungsmittel können mit Hilfe von Techniken hergestellt werden, die dem Fachmann wohl bekannt sind.

Weiterhin betrifft die Erfindung kosmetische oder pharmazeutische Formulierungen, welche eine oder mehrere Verbindungen der Formel I enthalten sowie die Verwendung einer oder mehrerer Verbindungen der Formel I in kosmetischen oder pharmazeutischen Formulierungen. Die  
5 kosmetischen Formulierungen, welche eine oder mehrere Verbindungen der Formel I enthalten sowie die Verwendung einer oder mehrerer Verbindungen der Formel I in kosmetischen Formulierungen ist bevorzugt.

10 Während vor etwa 30 Jahren Sonnenlicht aufgrund der Vitamin D-Synthese als heilend und unbedenklich angesehen wurde, hat sich in den letzten Jahren die Einstellung in dieser Beziehung nicht nur aus medizinischer Sicht erheblich geändert. Das Gefahrenpotential, welches  
15 sowohl natürliche als auch künstliche Bestrahlung mit Sonnenlicht in sich birgt, ist im Bewußtsein in den Vordergrund gerückt. Insbesondere ist auch eine Verhaltensänderung hervorgerufen worden durch das Wissen über den Einfluß von Sonnenlicht auf die Hautalterung und die Entstehung von Hautkrebs.

20 Bekanntlich reagiert die Haut empfindlich auf Sonnenstrahlen, welche einen gewöhnlichen Sonnenbrand oder ein Erythem, aber auch mehr oder weniger ausgeprägte Verbrennungen hervorrufen können.

25 Sonnenstrahlen haben aber auch andere negative Wirkungen: sie bewirken, daß die Haut ihre Elastizität verliert und sich Falten bilden und führen somit zu einer frühzeitigen Alterung. Manchmal kann man auch  
30 Dermatosen beobachten, und im extremen Fall kommt es zum Auftreten von Hautkrebs.

35 Es ist auch wünschenswert, Haare gegen photochemische Schäden zu schützen, um Veränderungen von Farbnuancen, ein Entfärben oder Schäden mechanischer Art zu verhindern.



5 Bekanntlich wird der gefährlichste Teil der Sonnenstrahlen von den ultravioletten Strahlen mit einer Wellenlänge von weniger als 400 nm gebildet. Bekannt ist auch, daß durch das Vorhandensein der Ozonschicht der Erdatmosphäre, die einen Teil der Sonnenstrahlung absorbiert, die untere Grenze der ultravioletten Strahlen, welche die Erdoberfläche erreichen, bei ca. 280 nm liegt.

10 Daher liegt das Hauptziel im Bereich Sonnenschutz eigentlich darin, einen guten Schutz gegen UVB- und UVA-Strahlung zu gewährleisten.

15 Die Verbindungen der Formel I können allein oder natürlich auch in Kombination mit weiteren Lichtschutzfiltern unterschiedlicher Substanzklassen, einzeln oder in Kombination, in der kosmetischen oder pharmazeutischen Zubereitung enthalten sein. Lichtschutzfilter anderer Substanzklassen sind beispielsweise organische oder anorganische UVA- und UVB-Filter, IR- oder VIS-Filter. Insbesondere bevorzugt ist die Kombination mit organischen UV-Filtern oder deren Gemischen.

20 Gegenstand der Erfindung ist daher auch die Verwendung einer oder mehrerer Verbindungen der Formel I in kosmetischen Formulierungen wie Sonnenschutzmitteln, Hautcremes oder -gelen, Haargelen oder kosmetischen Stiften, insbesondere als UV-Filter.

25 Als weitere geeignete organische UV-Filter kommen alle dem Fachmann bekannten UVA- als auch UVB-Filter in Frage. Für beide UV-Bereiche gibt es viele aus der Fachliteratur bekannte und bewährte Substanzen, z.B.

## Benzylidenkampferderivate wie

- 3-(4'-Methylbenzyliden)-dl-kampfer (z.B. Eusolex<sup>®</sup> 6300),
- 3-Benzylidenkampfer (z.B. Mexoryl<sup>®</sup> SD),
- 5 - Polymere von N-[(2 und 4)-[(2-oxoborn-3-yliden)methyl]benzyl]-  
acrylamid (z.B. Mexoryl<sup>®</sup> SW),
- N,N,N-Trimethyl-4-(2-oxoborn-3-ylidenmethyl)anilinium methylsulfat  
(z.B. Mexoryl<sup>®</sup> SK) oder
- 10 -  $\alpha$ -(2-Oxoborn-3-yliden)toluol-4-sulfonsäure (z.B. Mexoryl<sup>®</sup> SL),

## Benzoyl- oder Dibenzoylmethane wie

- 1-(4-tert-Butylphenyl)-3-(4-methoxyphenyl)propan-1,3-dion (z.B.  
Eusolex<sup>®</sup> 9020) oder
- 15 - 4-Isopropyldibenzoylmethan (z.B. Eusolex<sup>®</sup> 8020),

## Benzophenone wie

- 2-Hydroxy-4-methoxybenzophenon (z.B. Eusolex<sup>®</sup> 4360) oder
- 20 - 2-Hydroxy-4-methoxybenzophenon-5-sulfonsäure und ihr Natriumsalz  
(z.B. Uvinul<sup>®</sup> MS-40),

## Methoxyzimtsäureester wie

- 25 - Methoxyzimtsäureoctylester (z.B. Eusolex<sup>®</sup> 2292),
- 4-Methoxyzimtsäureisopentylester, z.B. als Gemisch der Isomere (z.B.  
Neo Heliopan<sup>®</sup> E 1000),

## Salicylatderivate wie

- 30 - 2-Ethylhexylsalicylat (z.B. Eusolex<sup>®</sup> OS),
- 4-Isopropylbenzylsalicylat (z.B. Megasol<sup>®</sup>) oder
- 3,3,5-Trimethylcyclohexylsalicylat (z.B. Eusolex<sup>®</sup> HMS),

4-Aminobenzoessäure und Derivate wie

- 4-Aminobenzoessäure,
- 4-(Dimethylamino)benzoessäure-2-ethylhexylester (z.B. Eusolex® 6007),
- ethoxylierter 4-Aminobenzoessäureethylester (z.B. Uvinul® P25),

und weitere Substanzen wie

- 2-Cyano-3,3-diphenylacrylsäure-2-ethylhexylester (z.B. Eusolex® OCR),
- 2-Phenylbenzimidazol-5-sulfonsäure sowie ihre Kalium-, Natrium- und Triethanolaminsalze (z.B. Eusolex® 232),
- 3,3'-(1,4-Phenylendimethylen)-bis-(7,7-dimethyl-2-oxobicyclo-[2.2.1]hept-1-ylmethansulfonsäure sowie ihre Salze (z.B. Mexoryl® SX) und
- 2,4,6-Trianiilino-(p-carbo-2'-ethylhexyl-1'-oxi)-1,3,5-triazin (z.B. Uvinul® T 150).

Diese organischen UV-Filter werden in der Regel in einer Menge von 0,5 bis 10 Gewichtsprozent, vorzugsweise 1 - 8 %, in kosmetische Formulierungen eingearbeitet.

Weitere geeignete organische UV-Filter sind z.B.

- 2-(2H-Benzotriazol-2-yl)-4-methyl-6-(2-methyl-3-(1,3,3,3-tetramethyl-1-(trimethylsilyloxy)disiloxanyl)propyl)phenol (z.B. Silatrizole®),
- 4,4'-[(6-[4-((1,1-Dimethylethyl)aminocarbonyl)phenylamino]-1,3,5-triazin-2,4-diyl)diimino]bis(benzoessäure-2-ethylhexylester) (z.B. Uvasorb® HEB),
- $\alpha$ -(Trimethylsilyl)- $\omega$ -[trimethylsilyl]oxy]poly[oxy(dimethyl [und ca. 6% methyl[2-[p-[2,2-bis(ethoxycarbonyl)vinyl]phenoxy]-1-methylenethyl] und ca. 1,5 % methyl[3-[p-[2,2-bis(ethoxycarbonyl)vinyl]phenoxy]-propenyl] und 0,1 bis 0,4% (methylhydrogen[silylen]] (n  $\approx$  60) (z.B. Parsol® SLX),

- 2,2'-Methylen-bis-(6-(2H-benzotriazol-2-yl)-4-(1,1,3,3-tetramethyl-butyl)phenol) (z.B. Tinosorb® M),
- 2,2'-(1,4-Phenylen)bis-(1H-benzimidazol-4,6-disulfonsäure, Mononatriumsalz) (z.B. Neo Heliopan® AP) und
- 2,4-bis-[[4-(2-Ethyl-hexyloxy)-2-hydroxyl]-phenyl]-6-(4-methoxyphenyl)-1,3,5-triazin (z.B. Tinosorb® S).

Diese organischen UV-Filter werden in der Regel in einer Menge von 0,5 bis 20 Gewichtsprozent, vorzugsweise 1 - 15 %, in kosmetische Formulierungen eingearbeitet.

Als anorganische UV-Filter sind solche aus der Gruppe der Titandioxide wie z.B. gecoatetes Titandioxid (z.B. Eusolex® T-2000), Zinkoxide (z.B. Sachtotec®), Eisenoxide oder auch Cerioxide denkbar. Diese anorganischen UV-Filter werden in der Regel in einer Menge von 0,5 bis 20 Gewichtsprozent, vorzugsweise 2 - 10 %, in kosmetische Formulierungen eingearbeitet.

In den Formulierungen, in denen Verbindungen der Formel I zusammen mit anderen UV-Filtern enthalten sind, wirken die Verbindungen der Formel I z.B. als Antioxidationsmittel und Radikalfänger. Zudem wird mit derartigen Formulierungen ein Breitband-UV-Schutz erreicht. Gegenstand der Erfindung ist somit auch die Verwendung von einer oder mehreren Verbindungen der Formel I in kosmetischen oder pharmazeutischen Formulierungen als UV-Filter, Antioxidans und/oder Radikalfänger.

Gegenstand der Erfindung ist ferner ein Verfahren zum Schutz der Haut und/oder natürlicher oder sensibilisierter Haare vor Sonnenstrahlen, wobei auf die Haut oder die Haare eine kosmetische Zubereitung, enthaltend eine oder mehrere Verbindungen der Formel I als Lichtschutzfilter, aufgetragen wird.

Gegebenenfalls können die erfindungsgemäßen Sonnenschutzmittel auch eine oder mehrere chemische Substanzen mit selbstbräunenden Eigenschaften enthalten.

5

Als chemische Substanzen mit selbstbräunenden Eigenschaften können alle dem Fachmann bekannten natürlichen und synthetischen Substanzen, welche zur Herstellung von kosmetischen Formulierungen geeignet sind, eingesetzt werden. Solche können sowohl pflanzliche Extrakte als auch synthetische Selbstbräuner, wie z.B. Dihydroxyaceton oder  $\alpha$ -Ketole, sein.

10

Weiterhin können die erfindungsgemäßen Formulierungen auch zur vorbeugenden Behandlung von Entzündungen und Allergien der Haut sowie auch in bestimmten Fällen zur Verhütung bestimmter Krebsarten verwendet werden.

15

Die erfindungsgemäße Zubereitung wird als Mittel zum Schutz der menschlichen Epidermis oder der Haare oder auch der sensibilisierten Haare oder als Sonnenschutzmittel verwendet.

20

Mit "sensibilisierten Haaren" sind Haare gemeint, welche einer Dauerwellenbehandlung, einem Färbe- oder Entfärbeprozess unterzogen worden sind.

25

Die erfindungsgemäße kosmetische Zubereitung wird zum Schutz menschlicher Epidermis gegen Sonneneinstrahlung verwendet. Dabei liegt sie in verschiedenen, für diesen Typ üblicherweise verwendeten Formen vor. So kann sie insbesondere als Lotion oder Emulsion, wie als Creme oder Milch (O/W, W/O), in Form ölig-alkoholischer, ölig-wässriger oder wässrig-alkoholischer Gele oder als feste Stifte vorliegen oder als Aerosol konfektioniert sein.

30

35

Die Formulierung kann kosmetische Adjuvanzen enthalten, welche in dieser Art von Zubereitungen üblicherweise verwendet werden, wie z.B. Verdickungsmittel, weichmachende Mittel, Befeuchtungsmittel, grenzflächenaktive Mittel, Emulgatoren, Konservierungsmittel, Mittel gegen Schaumbildung, Parfüms, Wachse, Lanolin, Treibmittel, Farbstoffe und/oder Pigmente, welche das Mittel selbst oder die Haut färben, und andere in der Kosmetik gewöhnlich verwendete Ingredienzien.

Man kann als Dispersions- bzw. Solubilisierungsmittel ein Öl, Wachs oder sonstigen Fettkörper, einen niedrigen Monoalkohol oder ein niedriges Polyol oder Mischungen davon verwenden. Zu den besonders bevorzugten Monoalkoholen oder Polyolen zählen Ethanol, i-Propanol, Propylenglycol, Glycerin und Sorbit.

Eine bevorzugte Ausführungsform der Erfindung ist eine Emulsion, welche als Schutzcreme oder -milch vorliegt und außer der oder den Verbindungen der Formel I als UV-Filter - und gegebenenfalls noch weiteren Lichtschutzfiltern - Fettalkohole, Fettsäuren, Fettsäureester, insbesondere Triglyceride von Fettsäuren, Lanolin, natürliche oder synthetische Öle oder Wachse und Emulgatoren in Anwesenheit von Wasser umfaßt.

Weitere bevorzugte Ausführungsformen stellen ölige Lotionen auf Basis von natürlichen oder synthetischen Ölen und Wachsen, Lanolin, Fettsäureestern, insbesondere Triglyceriden von Fettsäuren, oder ölig-alkoholische Lotionen auf Basis eines Niedrigalkohols, wie Ethanol, oder eines Glycols, wie Propylenglykol, und/oder eines Polyols, wie Glycerin, und Ölen, Wachsen und Fettsäureestern, wie Triglyceriden von Fettsäuren, dar.

Die erfindungsgemäße kosmetische Zubereitung kann auch als alkoholisches Gel vorliegen, welches einen oder mehrere Niedrigalkohole oder -polyole, wie Ethanol, Propylenglycol oder Glycerin, und ein Verdickungsmittel, wie Kieselerde umfaßt. Die ölig-alkoholischen Gele  
5 enthalten außerdem natürliches oder synthetisches Öl oder Wachs.

Die festen Stifte bestehen aus natürlichen oder synthetischen Wachsen und Ölen, Fettalkoholen, Fettsäuren, Fettsäureestern, Lanolin und  
10 anderen Fettkörpern.

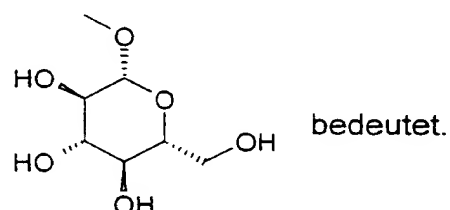
Ist eine Zubereitung als Aerosol konfektioniert, verwendet man in der Regel die üblichen Treibmittel, wie Alkane, Fluoralkane und  
15 Chlorfluoralkane.

Soll das erfindungsgemäße Mittel natürliche oder sensibilisierte Haare vor Sonneneinstrahlung schützen, so kann es als Shampoo, Lotion, Gel oder Emulsion zum Ausspülen vorliegen, wobei die jeweilige Formulierung vor  
20 oder nach dem Schampooieren, vor oder nach dem Färben oder Entfärben, vor oder nach der Dauerwelle aufgetragen wird; oder das Mittel liegt als Lotion oder Gel zum Frisieren und Behandeln, als Lotion oder Gel zum Bürsten oder Legen einer Wasserwelle, als Haarlack, Dauerwellmittel,  
25 Färbe- oder Entfärbemittel der Haare vor. Dieses Mittel kann außer der oder den Verbindungen der Formel I als organische UV-Filter - und gegebenenfalls weiteren Lichtschutzfiltern - verschiedene, in diesem Mitteltyp verwendete Adjuvanzen enthalten, wie grenzflächenaktive Mittel,  
30 Verdickungsmittel, Polymere, weichmachende Mittel, Konservierungsmittel, Schaumstabilisatoren, Elektrolyte, organische Lösungsmittel, Silikonderivate, Öle, Wachse, Antifettmittel, Farbstoffe und/oder Pigmente, die das Mittel selbst oder die Haare färben oder andere für die Haarpflege üblicherweise verwendete Ingredienzien.  
35

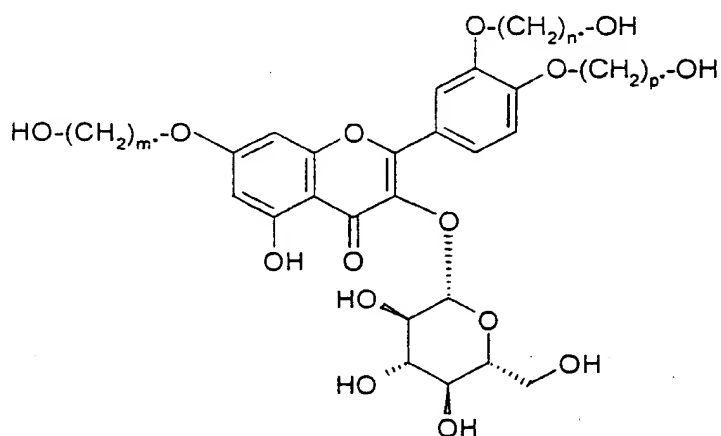
Die erfindungsgemäßen kosmetischen Zubereitungen können mit Hilfe von Techniken hergestellt werden, die dem Fachmann wohl bekannt sind.

Unter den Verbindungen der Formel I sind diejenigen Verbindungen be-

vorzuzug, worin der Rest  $R^1$



Diese Verbindungen der Formel I werden vor- und nachstehend auch als Verbindungen der Formel I\*



(I\*)

worin  $m^*$ ,  $n^*$  und  $p^*$  jeweils unabhängig voneinander 2 bis 8 bedeuten, bezeichnet.

Die vorliegende Erfindung betrifft auch diese Verbindungen der Formel I\*.

Überraschenderweise wurde gefunden, daß die Verbindungen der Formel I\* farblos sind.



In den Verbindungen der Formel I oder I\* sind m, n und p oder m\*, n\* und p\* jeweils unabhängig voneinander 2, 3, 4, 5, 6, 7 oder 8. Vorzugsweise sind m, n und p oder m\*, n\* und p\* jeweils unabhängig voneinander 2, 3 oder 4. Besonders bevorzugt sind m, n und p oder m\*, n\* und p\* gleich, ganz außerordentlich bevorzugt bedeuten m, n und p oder m\*, n\* und p\* 2.

Erfindungsgemäße Nahrungsmittel, die mit einer oder mehreren Verbindungen der Formel I\* angereichert sind, sowie erfindungsgemäße kosmetische Formulierungen, die eine oder mehrere Verbindungen der Formel I\* enthalten, sind besonders bevorzugt. Dementsprechend ist auch die Verwendung einer oder mehrerer Verbindungen der Formel I\* als Nahrungsergänzungsmittel bzw. deren Verwendung in kosmetischen Formulierungen, z.B. als UV-Filter, besonders bevorzugt.

Die vorliegende Erfindung stellt ein vorteilhaftes Verfahren zur Herstellung von Verbindungen der Formel I durch in wäßrigem Milieu stattfindende enzymatische Spaltung von Verbindungen der Formel II zur Verfügung. Nach diesem Verfahren werden die Verbindungen der Formel II in Wasser gelöst und mit einer geeigneten Menge eines Enzyms kontaktiert. Vorzugsweise wird die Reaktion unter guter Durchmischung, z.B. durch Rühren, durchgeführt.

Nach dem erfindungsgemäßen Verfahren können sowohl die Quercetin-Derivate der Formel I als auch die Isoquercetin-Derivate der Formel I hergestellt werden. Bevorzugt werden nach dem erfindungsgemäßen Verfahren jedoch entweder im wesentlichen nur die Quercetin-Derivate der Formel I oder im wesentlichen nur die Isoquercetin-Derivate der Formel I hergestellt.

5 Geeignete Enzyme für das erfindungsgemäße Verfahren sind Hydrolasen. Vorzugsweise werden Hydrolasen, die aus dem Stamm *Penicillium decumbens* gewonnen werden, verwendet, insbesondere die Enzyme Naringinase und Hesperidinase. Ganz außerordentlich bevorzugt ist das Enzym Naringinase.

10 Die Edukte und die Enzyme für das erfindungsgemäße Verfahren sind käuflich erwerbbar oder können nach Methoden, die dem Fachmann wohl bekannt und in der Literatur beschrieben sind (z.B. in Standard-Werken wie Houben-Weyl, Methoden der organischen Chemie, Georg-Thieme-Verlag, Stuttgart), gewonnen oder hergestellt werden.

15 Geeignete Reaktionstemperaturen für das erfindungsgemäße Verfahren sind Temperaturen zwischen 15 und 80 °C. Vorzugsweise wird das erfindungsgemäße Verfahren bei Reaktionstemperaturen von 30 bis 50 °C durchgeführt, insbesondere bei Reaktionstemperaturen von 35 bis 45 °C.

20 Wenn die Reaktionstemperatur zu niedrig ist, läuft die Reaktion mit einer unangemessen langsamen Reaktionsgeschwindigkeit ab. Wenn die Reaktionstemperatur dagegen zu hoch ist, wird das Enzym, welches ein Protein ist, denaturiert und somit deaktiviert.

25 Geeignete pH-Werte für das erfindungsgemäße Verfahren sind pH-Werte zwischen 3 und 8. Vorzugsweise wird das erfindungsgemäße Verfahren bei pH-Werten von 4,5 bis 7 durchgeführt, insbesondere bei pH-Werten von 4,8 bis 6,8. Weiterhin bevorzugte pH-Werte können jedoch je nach verwendetem Enzym innerhalb der gegebenen Grenzen variieren. Beispielsweise sind pH-Werte von 6,4 bis 6,8 bei Verwendung des Enzyms Naringinase ganz außerordentlich bevorzugt.

30

35

Vorzugsweise wird das Verfahren derart ausgeführt, daß der pH-Wert mit Hilfe eines Puffer-Systems eingestellt wird. Prinzipiell können alle gängigen Puffer-Systeme, die zur Einstellung der obengenannten pH-Werte geeignet sind, verwendet werden. Bevorzugt wird jedoch wäßriger Zitrat-Puffer verwendet.

Geeignete Gewichtsverhältnisse Edukt : Wasser für das erfindungsgemäße Verfahren sind Verhältnisse von 0,001 : 99,999 bis 40 : 60. Vorzugsweise wird das erfindungsgemäße Verfahren mit Gewichtsverhältnissen Edukt : Wasser von 0,005 : 99,995 bis 20 : 80 durchgeführt, insbesondere mit Gewichtsverhältnissen von 0,5 : 99,5 bis 10 : 90.

Geeignete Gewichtsverhältnisse Enzym : Edukt für das erfindungsgemäße Verfahren sind Verhältnisse von 0,005 : 99,995 bis 50 : 50. Vorzugsweise wird das erfindungsgemäße Verfahren mit Gewichtsverhältnissen Enzym : Edukt von 0,5 : 99,5 bis 30 : 70 durchgeführt, insbesondere mit Gewichtsverhältnissen von 2 : 98 bis 20 : 80.

Zur Herstellung der Isoquercetin-Derivate der Formel I wird das erfindungsgemäße Verfahren beispielsweise derart durchgeführt, daß die Reaktion bei Verwendung des Enzyms Naringinase vorzugsweise bei einer Temperatur von 35 bis 45 °C und einem pH-Wert von 4,8 bis 6,8 stattfindet und nach ca. 12 bis 18 h abgebrochen wird. Vorzugsweise wird die Reaktion hierbei ständig analytisch kontrolliert. Die Bildung bzw. Herstellung der Quercetin-Derivate der Formel I kann beispielsweise dadurch erreicht werden, daß die Reaktionszeit in geeigneter Weise verlängert wird.

Das Fortschreiten bzw. das Ende der Reaktion sowie die Analyse der Reaktionsprodukte kann z.B. mittels HPLC erfolgen, z.B. unter Verwendung von Standard-HPLC-Geräten und Säulen enthaltend reversed-phase-Materialien mit C<sub>18</sub>-Alkyl-Belegung.

Alternativ kann das Fortschreiten bzw. das Ende der Reaktion auch mittels Dünnschichtchromatographie (DC) kontrolliert werden.

5 Nach beendeter Reaktion besteht das Reaktionsgemisch hauptsächlich aus Wasser, Puffer, Enzym, geringen Mengen an nicht umgesetztem Edukt, Rhamnose, Quercetin- und/oder Isoquercetin-Derivat der Formel I und gegebenenfalls an Glucose. Die Isolierung der Quercetin- und/oder  
10 Isoquercetin-Derivate der Formel I erfolgt nach gängigen Methoden. Unter "üblicher Aufarbeitung" wird im Rahmen der vorliegenden Erfindung folgendes verstanden:

15 Das Reaktionsgemisch wird abgekühlt, beispielsweise auf eine Temperatur von 0 °C. Das hierbei auskristallisierende Quercetin- und/oder Isoquercetin-Derivat der Formel I wird vom restlichen Reaktionsgemisch abgetrennt, beispielsweise durch Absaugen bzw. Filtration unter vermindertem Druck oder durch Abschleudern der ausgefallenen Kristalle.  
20 Anschließend wird der Feststoff gewaschen, vorzugsweise mit Wasser, und danach getrocknet, z.B. bei einer Temperatur von 50 °C und einem Druck von 200 mbar.

25 Die weitere Aufreinigung der Reaktionsprodukte oder eine eventuell erforderliche Trennung der Quercetin- und Isoquercetin-Derivate der Formel I voneinander kann beispielsweise durch HPLC erfolgen.

30 Im Filtrat verbleiben Wasser, Puffer, Enzym, geringe Mengen Edukt, Rhamnose und gegebenenfalls Glucose.

Die Abtrennung der im Filtrat verbliebenen Substanzen kann durch bekannte Verfahren erreicht werden, beispielsweise durch Ultrafiltration,  
35 durch Überleiten des Filtrats über Kationen- und/oder Anionenaustauscher, durch Kristallisation und durch mechanische

Abtrennung wie z.B. Filtration. Eventuell im Filtrat vorhandene Glucose kann z.B. auch durch Hefe-Vergärung abgetrennt werden.

5

Die in den Aufarbeitungsschritten angefallenen Substanzen, wie z.B. das Enzym, können rezirkuliert und somit für weitere Umsetzungen verwendet werden.

10

Auch ohne weitere Ausführungen wird davon ausgegangen, daß ein Fachmann die obige Beschreibung in weitestem Umfang nutzen kann. Die bevorzugten Ausführungsformen sind deswegen lediglich als beschreibende, keinesfalls als in irgendeiner Weise limitierende Offenbarung aufzufassen.

15

Die vollständige Offenbarung aller vor- und nachstehend aufgeführten Anmeldungen und Veröffentlichungen sind durch Bezugnahme in diese Anmeldung eingeführt.

20

Das folgende Beispiel soll die vorliegende Erfindung verdeutlichen. Es ist jedoch keinesfalls als limitierend zu betrachten.

25

### **Beispiel**

Die Bezugsquellen für die verwendeten Substanzen sind wie folgt:

30

Tri(hydroxyethyl)rutin:	Merck KGaA, Artikel-Nr. 501902
Naringinase:	Sigma, Artikel-Nr. N-1385

35

Die Reaktionskontrolle und die Analyse der Reaktionsprodukte erfolgt mittels HPLC.

HPLC-Bedingungen bei Verwendung einer Standard-HPLC-Anlage:

5	Säule:	LiChroSorb® RP18 (reversed phase-Material mit C <sub>18</sub> -Alkyl-Belegung und einer Korngröße von 5 µm (Merck KGaA, Artikel-Nr. 151355)),	
	Eluent:	Gemisch aus Acetonitril und Wasser im Volumenverhältnis 20 : 80 (pH 2,6),	
	Fluß:	1 ml/min,	
	Wellenlänge:	260 nm,	
10	Temperatur:	30 °C,	
	Probenvolumen:	10 µl,	
	Probenvorbereitung:	5 mg der Probe in 3 ml Methanol lösen und mit dem Eluent auf 10 ml auffüllen,	
15	Retentionszeiten:	Trihydroxyethylrutin:	10,1 min,
		Trihydroxyethylisoquercetin:	11,4 min,
		Trihydroxyethylquercetin:	42,7 min.

**Beispiel 1**

20 5 g Tri(hydroxyethyl)rutin werden in 150 ml vollentsalztem Wasser gelöst und durch Zugabe von 0,64 g Zitronensäure und 1,4 g 32 %iger wäßriger Natronlauge auf einen pH-Wert von 6,6 eingestellt. Anschließend werden

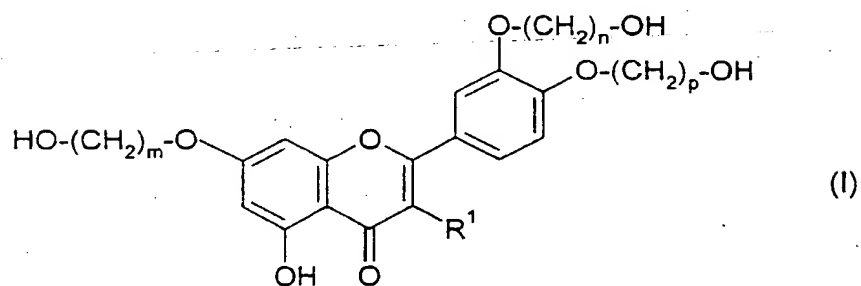
25 0,5 g Naringinase eingetragen und das Reaktionsgemisch 16 h bei einer Reaktionstemperatur von 40 °C gerührt. Nach üblicher Aufarbeitung werden 2,41 g Tri(hydroxyethyl)isoquercetin in 96 %iger Reinheit erhalten.

30

35

# Patentansprüche

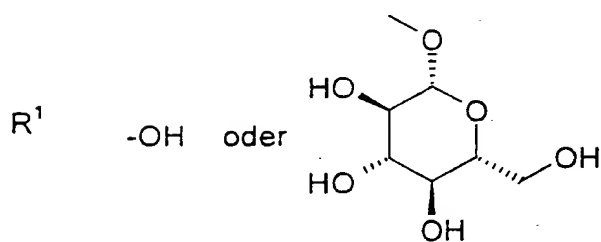
## 1. Verfahren zur Herstellung von Verbindungen der Formel I



worin

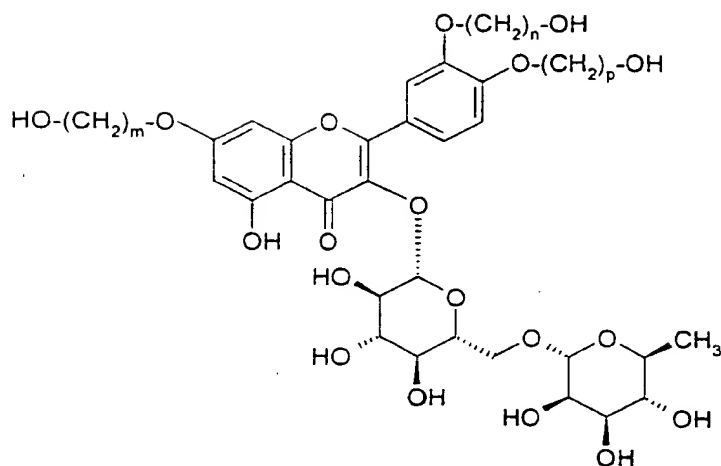
m, n

und p jeweils unabhängig voneinander 2 bis 8, und



bedeuten,

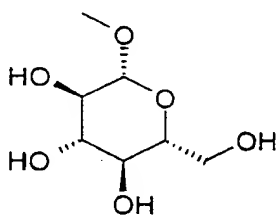
dadurch gekennzeichnet, daß Verbindungen der Formel II



worin m, n und p jeweils unabhängig voneinander die in Formel I angegebene Bedeutung besitzen,

in wäßrigem Milieu enzymatisch gespalten werden.

2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß Verbindungen der Formel I hergestellt werden, worin der Rest R<sup>1</sup>



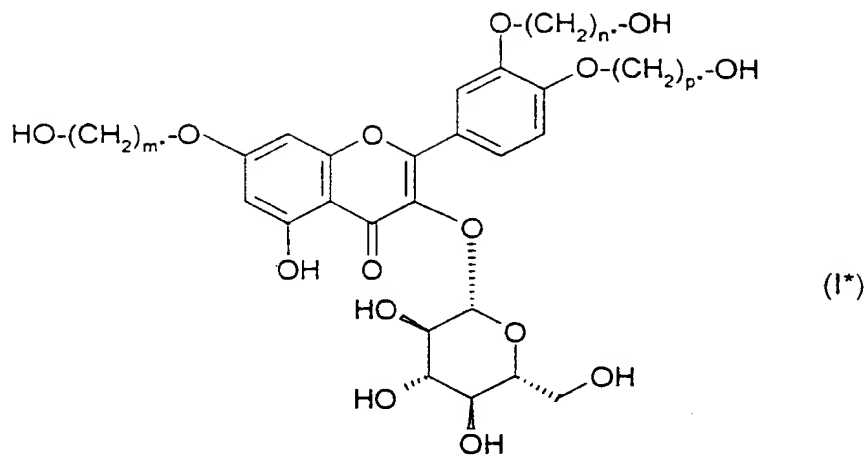
bedeutet.

3. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, daß Verbindungen der Formel I hergestellt werden, worin m, n und p 2 bedeuten.



4. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, daß die Reaktion bei einer Reaktionstemperatur von 15 bis 80 °C durchgeführt wird.
- 5 5. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, daß die Reaktion bei einem pH-Wert von 3 bis 8 durchgeführt wird.
- 10 6. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 5, dadurch gekennzeichnet, daß die Reaktion unter Verwendung von Hydrolasen durchgeführt wird.
- 15 7. Nahrungsmittel, dadurch gekennzeichnet, daß es mit einer oder mehreren Verbindungen der Formel I angereichert worden ist.
8. Verwendung von einer oder mehreren Verbindungen der Formel I als  
20 Nahrungsergänzungsmittel.
9. Kosmetische oder pharmazeutische Formulierung, dadurch gekennzeichnet, daß sie eine oder mehrere Verbindungen der Formel I enthält.
- 25 10. Formulierung nach Anspruch 9, dadurch gekennzeichnet, daß sie weitere UV-Filter enthält.
- 30 11. Verwendung von einer oder mehreren Verbindungen der Formel I in kosmetischen oder pharmazeutischen Formulierungen.
12. Verwendung von einer oder mehreren Verbindungen der Formel I  
nach Anspruch 11 als UV-Filter, Antioxidans und/oder Radikalfänger.

## 13. Verbindungen der Formel I\*



15 worin m\*, n\* und p\* jeweils unabhängig voneinander 2 bis 8  
bedeuten.

14. Verbindungen der Formel I\* nach Anspruch 13, dadurch  
20 gekennzeichnet, daß m\*, n\* und p\* 2 bedeuten.

25

30

35

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Intern. Appl. No.

PCT/EP 99/07685

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 7 C12P17/06 C12P19/60 C07H17/07 A61K31/70 A23L1/03  
A61K31/35 A61K7/42

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 C12P C07H A61K A23L

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WURM ET AL.: "Reioselektive 0-hydroxyethylierung von Qercetin" ARCH. PHARM., vol. 318, 1985, pages 747-753, XP000882424 See page 5, Production from 5; See also page 747 ---	1-14
Y	US 3 420 815 A (COURBAT PIERRE J) 7 January 1969 (1969-01-07)	1-12
X	See column 1, lines 65-70 example VII --- -/--	13,14

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.☒ Patent family members are listed in annex.

## \* Special categories of cited documents:

\*A\* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

\*E\* earlier document but published on or after the international filing date

\*L\* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

\*O\* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

\*P\* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

\*T\* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

\*X\* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

\*Y\* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

\*Z\* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

15 May 2000

Date of mailing of the international search report

29.05.00

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl  
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Steendijk, M

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Inter. onal Application No  
PCT/EP 99/07685

## C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	IOKU ET AL.: "b-Glucosidase activity in the rat small intestine toward quercetin monoglucosides" BIOSCI. BIOTECHNOL. BIOCHEM., vol. 62, no. 7, 1998, pages 1428-1431, XP000882413 page 1430 ---	1-6
Y	ISHIDA ET AL.: "Studies on the antihemorrhagic substances in herbs ..." CHEM. PHARM. BULL., vol. 36, no. 11, 1988, pages 4414-4420, XP002134480 See pages 4417 and 4419, production 4 ---	1-6
A	LOA-JER ET AL.: "Structural aspects of anthocyanin-flavonoid complex..." PYTOCHEMISTRY, vol. 20, 1981, pages 297-303, XP002134481 page 301 ---	13,14
X,Y	REKKA ET AL.: "Effect of hydroxyethyl rutosides and..." J. PHARM. PHARMACOL., vol. 43, 1991, pages 486-491, XP000882428 tables 1-3 ---	7-12
X,Y	DATABASE WPI Section Ch, Week 199005 Derwent Publications Ltd., London, GB; Class A96, AN 1990-032314 XP002137677 & JP 01 308476 A (SHOWA DENKO KK), 13 December 1989 (1989-12-13) abstract ---	9-12
Y	US 4 603 046 A (GEORGALAS ARTHUR C W ET AL) 29 July 1986 (1986-07-29) abstract ---	9-12
Y	DATABASE WPI Section Ch, Week 199711 Derwent Publications Ltd., London, GB; Class B04, AN 1997-115173 XP002137678 & JP 09 002917 A (ASAHI BREWERIES LTD), 7 January 1997 (1997-01-07) abstract ---	7-12
	---	
	-/--	

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Inter. .onal Application No

PCT/EP 99/07685

## C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	<p>           DATABASE WPI            Section Ch, Week 199202            Derwent Publications Ltd., London, GB;            Class D21, AN 1992-011304            XP002137679            &amp; JP 03 255013 A (DAIICHI PHARM CO LTD),            13 November 1991 (1991-11-13)            abstract         </p> <p style="text-align: center;">-----</p>	9-12

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/EP 99/07685

## Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:  
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
2. ☐ Claims Nos.:  
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:  
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

## Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

See additional sheet

1. ☒ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

### Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
- ☒ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/EP99/07685

The International Searching Authority found that this international application contains multiple inventions, as follows:

1. Claims Nos. 1-6, 13, 14

Production of quercetin and isoquercetin derivatives by enzymatic reaction of a rutin derivative, and iosquertcetin derivative thus produced

2. Claims Nos. 7-12

Use of produced quercetin/isoquercetin derivatives

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

Intern. Appl. Application No

PCT/EP 99/07685

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 3420815	A	07-01-1969	FR 5072 M	16-05-1967
			BE 688577 A	20-04-1967
			CH 458389 A	
			DE 1793746 A	30-05-1973
			DE 1543974 A	12-02-1970
			DK 117837 B	08-06-1970
			FI 53455 B	31-01-1978
			GB 1159317 A	23-07-1969
			NL 6615071 A,B	26-04-1967
			SE 351847 B	11-12-1972
-----				
JP 1308476	A	13-12-1989	NONE	
-----				
US 4603046	A	29-07-1986	DE 3677110 D	28-02-1991
			EP 0216084 A	01-04-1987
-----				
JP 9002917	A	07-01-1997	NONE	
-----				
JP 3255013	A	13-11-1991	NONE	
-----				



### A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES

IPK 7	C12P17/06	C12P19/60	C07H17/07	A61K31/70	A23L1/03
	A61K31/35	A61K7/42			

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

## B. RECHERCHIÈRE GEBIETE

**Recherchiertes Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)**

IPK 7 C12P C07H A61K A23L

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

### C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	WURM ET AL.: "Reioselektive O-hydroxyethylierung von Qercetin" ARCH. PHARM., Bd. 318, 1985, Seiten 747-753, XP000882424 siehe Seite 5, Herstellung von 5; siehe weiter Seite 747	1-14
Y	US 3 420 815 A (COURBAT PIERRE J) 7. Januar 1969 (1969-01-07)	1-12
X	siehe Spalte 1, Zeilen 65-70 Beispiel VII	13,14
	-/-	



Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen



**Siehe Anhang Patentfamilie**

\* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

\*A\* Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

\*E\* älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

\*L\* Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

\*O Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

\*P\* Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

<sup>1</sup> Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie ansgesagt ist.

**"X"** Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

\*g\* Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abchlusses der internationalen Recherche

**15. Mai 2000**

Abendedatum des Internationalen Rechercheberichts

29. 05. 00

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchebehörde  
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3018

Bevollmächtigter Bediensteter

**Steendijk, M.**

## C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
Y	IOKU ET AL.: "b-Glucosidase activity in the rat small intestine toward quercetin monoglucosides" BIOSCI. BIOTECHNOL. BIOCHEM., Bd. 62, Nr. 7, 1998, Seiten 1428-1431, XP000882413 Seite 1430	1-6
Y	ISHIDA ET AL.: "Studies on the antihemorrhagic substances in herbs ..." CHEM. PHARM. BULL., Bd. 36, Nr. 11, 1988, Seiten 4414-4420, XP002134480 siehe Seiten 4417 and 4419, Herstellung 4	1-6
A	LOA-JER ET AL.: "Structural aspects of anthocyanin-flavonoid complex..." PHYTOCHEMISTRY, Bd. 20, 1981, Seiten 297-303, XP002134481 Seite 301	13,14
X,Y	REKKA ET AL.: "Effect of hydroxyethyl rutosides and..." J. PHARM. PHARMACOL., Bd. 43, 1991, Seiten 486-491, XP000882428 Tabellen 1-3	7-12
X,Y	DATABASE WPI Section Ch, Week 199005 Derwent Publications Ltd., London, GB; Class A96, AN 1990-032314 XP002137677 & JP 01 308476 A (SHOWA DENKO KK), 13. Dezember 1989 (1989-12-13) Zusammenfassung	9-12
Y	US 4 603 046 A (GEORGALAS ARTHUR C W ET AL) 29. Juli 1986 (1986-07-29) Zusammenfassung	9-12
Y	DATABASE WPI Section Ch, Week 199711 Derwent Publications Ltd., London, GB; Class B04, AN 1997-115173 XP002137678 & JP 09 002917 A (ASAHI BREWERIES LTD), 7. Januar 1997 (1997-01-07) Zusammenfassung	7-12
	-/-	

## C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
Y	<p>DATABASE WPI Section Ch, Week 199202 Derwent Publications Ltd., London, GB; Class D21, AN 1992-011304 XP002137679 &amp; JP 03 255013 A (DAIICHI PHARM CO LTD), 13. November 1991 (1991-11-13) Zusammenfassung</p>	9-12

## Feld I Bemerkungen zu den Ansprüchen, die sich als nicht recherchierbar erwiesen haben (Fortsetzung von Punkt 2 auf Blatt 1)

Gemäß Artikel 17(2)a) wurde aus folgenden Gründen für bestimmte Ansprüche kein Recherchenbericht erstellt:

1. ☐ Ansprüche Nr.  
weil sie sich auf Gegenstände beziehen, zu deren Recherche die Behörde nicht verpflichtet ist, nämlich
2. ☐ Ansprüche Nr.  
weil sie sich auf Teile der internationalen Anmeldung beziehen, die den vorgeschriebenen Anforderungen so wenig entsprechen, daß eine sinnvolle internationale Recherche nicht durchgeführt werden kann, nämlich
3. ☐ Ansprüche Nr.  
weil es sich dabei um abhängige Ansprüche handelt, die nicht entsprechend Satz 2 und 3 der Regel 6.4 a) abgefaßt sind.

## Feld II Bemerkungen bei mangelnder Einheitlichkeit der Erfindung (Fortsetzung von Punkt 3 auf Blatt 1)

Die internationale Recherchenbehörde hat festgestellt, daß diese internationale Anmeldung mehrere Erfindungen enthält:

siehe Zusatzblatt

1. ☒ Da der Anmelder alle erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht auf alle recherchierbaren Ansprüche.
2. ☐ Da für alle recherchierbaren Ansprüche die Recherche ohne einen Arbeitsaufwand durchgeführt werden konnte, der eine zusätzliche Recherchegebühr gerechtfertigt hätte, hat die Behörde nicht zur Zahlung einer solchen Gebühr aufgefordert.
3. ☐ Da der Anmelder nur einige der erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht nur auf die Ansprüche, für die Gebühren entrichtet worden sind, nämlich auf die Ansprüche Nr.
4. ☐ Der Anmelder hat die erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren nicht rechtzeitig entrichtet. Der internationale Recherchenbericht beschränkt sich daher auf die in den Ansprüchen zuerst erwähnte Erfindung; diese ist in folgenden Ansprüchen erfaßt:

Bemerkungen hinsichtlich eines Widerspruchs

- ☐ Die zusätzlichen Gebühren wurden vom Anmelder unter Widerspruch gezahlt.
- ☒ Die Zahlung zusätzlicher Recherchegebühren erfolgte ohne Widerspruch.

## WEITERE ANGABEN

PCT/ISA/ 210

Die internationale Recherchenbehörde hat festgestellt, daß diese internationale Anmeldung mehrere (Gruppen von) Erfindungen enthält, nämlich:

1. Ansprüche: 1-6,13,14

Herstellung von Quercetin und Isoquercetin Derivaten durch enzymatische Umsetzung von einem Rutin-Derivat, sowie das dabei hergestellte Isoquercetin Derivat

2. Ansprüche: 7-12

Verwendungen der hergestellte Quercetin/Isoquercetin Derivate

# INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 99/07685

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
US 3420815 A	07-01-1969	FR 5072 M	16-05-1967
		BE 688577 A	20-04-1967
		CH 458389 A	
		DE 1793746 A	30-05-1973
		DE 1543974 A	12-02-1970
		DK 117837 B	08-06-1970
		FI 53455 B	31-01-1978
		GB 1159317 A	23-07-1969
		NL 6615071 A, B	26-04-1967
		SE 351847 B	11-12-1972
JP 1308476 A	13-12-1989	KEINE	
US 4603046 A	29-07-1986	DE 3677110 D	28-02-1991
		EP 0216084 A	01-04-1987
JP 9002917 A	07-01-1997	KEINE	
JP 3255013 A	13-11-1991	KEINE	